Vestnik zoologii, **42**(5): 387—401, 2008

К 90-летию
Национальной академии наук Украины

УДК 576.3: 611.71/72

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО КОСМОБИОЛОГИИ В ИНСТИТУТЕ ЗООЛОГИИ НАН УКРАИНЫ. ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПОТЕРИ КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ МИКРОГРАВИТАЦИИ И ГИПОКИНЕЗИИ

Н. В. Родионова

Институт зоологии им. И. И. Шмальгаузена НАН Украины,
ул. Б. Хмельницкого, 15, Киев, 01601 Украина
E-mail arian@i.com.ua

Принято 21 августа 2008

Исследования по космобиологии в Институте зоологии НАН Украины. Цитологические механизмы потери костной ткани при микрогравитации и гипокинезии. Родионова Н. В. — Представлено описание международных космических экспериментов на клеточных культурах и животных (белые крысы, нечеловекообразные обезьяны), проведенных на биоспутниках «Bion-9», «Bion-10», «Bion-11», американской космической лаборатории «SLS—2», а также наземных исследований с моделированием гипокинезии, в которых принимали участие сотрудники отдела цитологии и гистогенеза Института зоологии НАН Украины в рамках научного сотрудничества с ГНЦ РФ ИМБП РАН, грантов ЕС, НАСА, контрактов с НКАУ и др. Представлены основные результаты исследований по изучению влияния микрогравитации и гипокинезии на развитие, дифференцировку, специфические функции и взаимодействие клеток в зонах остеопластических и резорбтивных процессов в костных структурах. Предложена концепция о клеточных механизмах ремоделирования костной ткани и развития остеопороза при микрогравитации и гипокинезии. Рассматриваются перспективные научные исследования, в том числе эксперимент «ОБЛАСТ» (МКС).

Ключевые слова: костная ткань, клетки, ультраструктура, микрогравитация, гипокинезия.

Investigations on Cosmobiology in the Institute of Zoology, NAS of Ukraine. Cytological Mechanisms of Bone Tissue Loss under Microgravity and Hypokinesia. Rodionova N. V. — International space experiments on cell culture and animals (white rats, non-apelike monkeys) carried out on biosatellites "Bion-9", "Bion-10", "Bion-11", American space laboratory "SLS—2", and also ground experiments with modeled hypokinesia are described. Collaborators of the department of cytology and histogenesis of the Institute of zoology NAS of Ukraine participated these experiments in the framework of scientific cooperation with SSC IMBP RAS, grants EU, NASA, contracts with NSAU and other. The main results of experiments on the influence of microgravity and hypokinesia on development, differentiation, specific function and interaction of cells in zones of osteoplastic and resorptive processes in bone structures are provided. A conception of cells mechanisms in remodeling of bone tissue and development of osteoporosis under conditions of microgravity and hypokinesia is proposed. Perspective scientific investigations, including the "OBLAST" experiment (ISS) are considered.

Key words: bone tissue, cells, ultrastructure, microgravity, hypokinesia.

Введение

В процессе эволюции силы гравитации определили морфогенез и строение живых существ, населяющих Землю, а также характер метаболических процессов, обеспечивающих их выживание. В связи с адаптацией к гравитационным стимулам в клетках сформировались механизмы гравичувствительности. Наиболее четко роль гравитации прослеживается в эволюции костного скелета и опорно-двигательных функций у наземных позвоночных. Статодинамические нагрузки на костный скелет, которые постоянно изменялись, стимулировали развитие в филогенезе систем моделирования и ремоделирования, лежащих в основе морфогенеза и структурно-функциональных адаптаций в костном скелете (Шмальгаузен, 1964; Смит, 1975; Коржуев, 1976; Carter, 1991; Burr, Martin, 1992).

Согласно современным представлениям (Morey-Holton, Globus, 1998; Vico, 1998) первичная реакция на изменение механического напряжения опосредована локальными (тканевыми) факторами и прямым участием в этих процессах клеток костной ткани. Однако клеточные и тканевые особенности, которые обеспечивают структурные и функциональные адаптации костного скелета в онто- и филогенезе во многом остаются неясными. В частности, механизмы восприятия механических стимулов и их трансдукции в костной ткани, взаимодействия клеток в процессах остеогенеза и резорбции костных структур, специфика этих процессов у животных с разным типом механических и локомоторных функций. Живые организмы и гравитация, механизмы их гравичувствительности и адаптации к изменениям механических нагрузок — актуальная проблема фундаментальной биологии. Практическую значимость проблема приобретает в связи с пребыванием человека и животных в условиях космических полетов (микрогравитация), дефицитом опорно-двигательной нагрузки (гипокинезия), длительной вынужденной иммобилизацей и т. п.

Исследования на космических спутниках и станциях показали, что костный скелет является одной из важнейших мишеней действия микрогравитации и гипокинезии на организм. Установлено, что в этих условиях происходит уменьшение массы скелета, прочности и минеральной насыщенности костей, особенно тех, которые несут опорную нагрузку (бедренные кости, позвонки, кости таза). Потеря костной массы квалифицируется как клинически значимая локальная остеопения (иногда остеопороз), что приводит к формированию в костях критических зон с высокой вероятностью переломов. У некоторых астронавтов костная масса не восстанавливается даже через 6 месяцев после возвращения на Землю. Это сильно усложняет перспективу длительных космических полетов (Ступаков, Воложин, 1989; Morey-Holton, Arnaud, 1991; Григорьев и др., 1994; Оганов, Шнайдер, 1997; Оганов, 2003; Doty, 2004 и др.).

Остеопороз в настоящее время выступает как одно из основных заболеваний, обусловленных не только генетическими факторами, но и малоподвижным образом жизни (гипокинезия), вредными экологическими и социальными условиями, и рассматривается как «болезнь цивилизации». Согласно данным ВОЗ, остеопороз по распространенности и смертности от его последствий (переломы костей у людей пожилого возраста, особенно у женщин) занимает третье место после сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний. Риск остеопоротических переломов в возрасте 50 лет составляет 39,7% для женщин и 13,7% для мужчин (Melton, 1995). Социально-экономическая значимость проблемы обусловила тот факт, что в 2000 г. ВОЗ объявила о начале Всемирного десятилетия изучения патологии костей и суставов (The Bone and Joint Decade, 2000–2010). В Украине ситуация усложняется за счет развития у значительной части населения еще и пострадиационного остеопороза вследствие Чернобыльской катастрофы (Поворознюк и др., 1995; Родионова и др., 1996).

Микрогравитация — максимальный дефицит механической нагрузки — является оптимальной моделью для исследования механизмов развития остеопороза и остеопении. Над решением проблем влияния гипокинезии и микрогравитации на костный скелет много работают: в США — в научно-исследовательских центрах НАСА и др. (D. Holton, S. Arnaud, S. Doty, L. Garetto и др.); в Европе — члены Европейского космического агентства (ЕКА): Франция (E. Zerath, H. Holy, L. Vico и др.), Нидерланды (P. Veldhuijzen и др), Великобритания (B. Noble, J. Mosley и др.) и другие страны; в России — в ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем (ИМБП) РАН, Москва (А. И. Григорьев, Я. П. Ступаков, В. С. Оганов, О. С. Капланский, Г. М. Дурнова, А. С. Орлов и др.).

Участие сотрудников Института зоологии в международных космических программах и экспериментах

В отделе цитологии и гистогенеза Института зоологии им. И. И. Шмальгаузена НАН Украины (ИЗШК) уже более 30 лет ведутся целенаправленые исследования по изучению закономерностей развития, дифференцировки, функциональных особенностей клеток хрящевого и костного скелета в онтогенезе у различных классов позвоночных. Накоплен значительный опыт по изучению влияния на эти процессы различных факторов внешней среды (свинцовые и фенольные загрязнения, радиация после Чернобыльской катастрофы). С 1990 г. в отделе начаты исследования по изучению цитологических механизмов изменений в костях скелета при действии микрогравитации и гипокинезии. Исследования выполняются в рамках международного научного сотрудничества, научных программ и грантов; бюджетных тем Национальной академии наук Украины (рис. 1):

1. Научное сотрудничество с ГНЦ РФ ИМБП РАН, Россия, Москва (с 1990 г.).

2. Гранты ГКНТ (1992–1996 гг.).

3. Национальные космические программы (1993–2007 гг., 2008–2012 гг.).

Участие Института зоологии им. И. И. Шмальгаузена НАН Украины в международных космических экспериментах

Институт медико-биологических проблем (Москва, Россия), Институт зоологии НАН Украины (Киев)

Бион-9 (1989) Россия, США и др. (белые крысы, длинные кости)	Бион-10 (1993) Нидерланды, Бельгия, Франция (клеточные и органные культуры)
SLS–2 (1996) Россия, США (белые крысы, длинные кости)	Бион-11 (1998) Россия, США, Франция и др. (обезьяны, биоптаты кости)

Участие Института зоологии им. И.И. Шмальгаузена НАНУ в наземных экспериментах

Международные эксперименты: моделированная микрогравитация, снятие опорной нагрузки с задних конечностей, Россия, США, ЕС (1996–2004) (белые крысы, длинные кости)	Эксперименты, поставленные в Институте зоологии НАН Украины: моделированная микрогравитация, снятие опорной нагрузки с задних конечностей (2003–2008) (белые крысы, длинные кости)

Рис. 1. Участие Института зоологии НАН Украины в космических и наземных экспериментах.
Fig. 1. Participation of Institute of zoology NAS of Ukraine in space and ground experiments.

4. Российско-украинская программа «Перечень важнейших тем для сотрудничества, которые выполняются совместно с учеными РАН и НАНУ» (2003–2010 гг.).

5. Грант США и ЕС (проект УНТЦ) (2002–2004 гг.).

6. Долгосрочная программа совместных российско-украинских научных исследований и технологических экспериментов на российском сегменте МКС (космический эксперимент «ОБЛАСТ») (с 2003 г.).

В задачи наших исследований входит — в экспериментах на животных в условиях микрогравитации и гипокинезии изучить:

— гистоструктурные перестройки в костях скелета, несущих опорную нагрузку (длинные кости, кости таза);

— ультраструктурные изменения в клетках, участвующих в процессах адаптивного ремоделирования костных структур (остеогенные клетки-предшественники, остеобласты, остеоциты, остеокласты, мононуклеарные фагоциты и др.);

— особенности пролиферации, дифференцировки, специфического функционирования и взаимодействий клеток в зонах остеогенеза и резорбции костной ткани;

— разработка концепции о клеточных механизмах адаптивного ремоделирования костной ткани и развития остеопении и остеопороза в условиях микрогравитации и гипокинезии.

В исследованиях применены методы гистологии, гистохимии, трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии, культуры клеток и тканей, люминисцентной микроскопии, гистоавторадиографии, морфометрии и др. Гистопрепараты изучали с использованием компьютерных программ анализа изображений в световых микроскопах (фирма «Zeiss», Германия). Электронно-микроскопические исследования проводили с помощью микроскопов («Тесла БС500», «Тесла БС301», «Geol 6060LA») с применением фотосканера EP3200.

Космические эксперименты

«Bion-9» (Россия, Плесецк, 1989, продолжительность эксперимента 14 сут, белые крысы *Wistar* SPF). Цель эксперимента — исследовать структурные изменения в длинных костях с использованием методов гистологии и сканирующей электронной микроскопии. Исследования проводили совместно с В. С. Огановым, А. В. Бакулиным, О. Е. Кабицкой (ГНЦ РФ ИМБП РАН).

«Bion-10» (Россия, Плесецк, 1993, продолжительность полета 11 сут, мыши *Swiss mice*, клеточные и органные культуры). Цель эксперимента — с использованием разработанной Европейским космическим агентством (ЕКА) системы культивирования «Биобокс» изучить в условиях in vitro влияние микрогравитации на развитие эмбриональных костей конечностей мышей (эксперимент «BONES», ответственный исполнитель от ЕКА P. Veldhuijzen, Нидерланды); дифференцировку остеогенных клеток линии NM7 (эксперимент «MARROW», ответственный исполнитель от ЕКА G. Schoeters, Бельгия). В экспериментах были поставлены виварийный и синхронный контроли.

Bion-11» (Россия, Плесецк, 1997, продолжительность полета 14 сут, обезьяны *Macaca mulatta*). Были поставлены виварийный и синхронный контроли. Цель эксперимента — на биоптатах костной ткани гребня подвздошной кости изучить гисто- и ультраструктурные изменения в костной ткани. Исследования проводили совместно с В. С. Огановым и сотрудниками (ГНЦ РФ ИМБП РАН).

Космическая лаборатория SLS–2 (США, 1993, продолжительность полета 14 сут, белые крысы Sprague-Dawly). Были поставлены виварийный и синхронный контроли. Цель эксперимента — изучить ультраструктурные изменения в дифференцирующихся остеогенных клетках, остеобластах и остеокластах в зонах остеогенеза и резорбции. Исследования проводили совместно с В. С. Огановым и другими сотрудниками (ГНЦ РФ ИМБП РАН).

Наземные эксперименты

Эксперименты (всего 16) были поставлены на 4–6-месячных белых крысах Wistar, взятых в вивариях отдела цитологии и гистогенеза ИЗШК и ГНЦ РФ ИМБП РАН. Гипокинезию моделировали по методу Morey-Holton и соавт. (1981) путем снятия опорной нагрузки с задних конечностей («вывешивание» за хвост под углом 35°), изучали бедренные кости. Исследования проводили с использованием комплекса указанных выше методов.

Основные результаты исследований

Гистологические исследования, проведенные нами на биоспутнике «Bion-9», «SLS–2» и в условиях моделированной гипокинезии позволили установить (Родионова и др., 1991; Rodionova, Oganov, 1998), что в бедренных костях крыс имеет место снижение удельного объема костной ткани (особенно при микрогравитации), деструкция и перфорация трабекул в метафизах, где превалирует метаболически активная костная ткань; это сопровождается снижением количества остеобластов и остеоцитов, увеличением количества пустых остеоцитарных лакун. При долговременной гипокинезии структурные изменения (спонгизация, полости в кортикальной кости, пустые остеоцитарные лакуны в костной ткани) появляются и в диафизарной трубке бедренной кости (рис. 2). Наши гистологические исследования кореллируют с данными, полученными в этих же экспериментах рядом авторов (Kaplansky et al., 1990; Капланский, Дурнова, 1991; Vico et al., 1993 и др.).

В экспериментах «Bones» (Кости) и «Marrow» (Костный мозг) на биоспутнике «Bion-10» исследовано влияние микрогравитации на развитие эмбриональной метатарзальной кости и дифференцировку остеогенных клеток в системе in vitro. В эксперименте «Bones» показано снижение интенсивности ростовых и биосинтетических процессов, а также масштабов минерализации в хрящевых закладках кости (Loon, 1995). Электронной микроскопией показано, что это происходит в результате замедления перехода хондроцитов в гипертрофированное состояние с последующей их деструкцией. Отсутствие васкуляризации во внутреннем слое перихондра является причиной задержки процессов перихондрально-энхондрального остеогенеза и дифференцировки остеогенных клеток. Эти изменения являются результатом снижения (или потери) морфогенетической роли перихондра, так как его структура значительно нарушается (Родионова, Вельдхьюзен, 1994; Родіонова, 2006). Морфометрический анализ ультраструктуры преостеобластических клеток MN7 (эксперимент «Marrow») показал замедление дифференцировки остеогенных клеток в условиях микрогравитации (Березовская, Родионова, 1998).

При исследовании особенностей колониеобразования стромальных клеток костного мозга ex vivo после моделированной гипокинезии установлено, что колонии стромальных остеогенных клеток представлены менее дифференцированными, чем в контроле, клетками. В колониях увеличивается количество адипоцитов. Таким образом in vitro показано, что микрогравитация и гипокинезия снижают остеогенные потенции стромальных клеток-предшественников (Родионова, Богданович, 2005).

Изучены особенности ультраструктуры капилляров и периваскулярных клеток в метафизах бедренных костей крыс, которые находились в условиях моделированной гипокинезии и микрогравитации («SLS–2»). Обнаружена тенденция к снижению удельного объема синусоидных капилляров у опытных животных в зонах остеогенеза. Наличие в популяции периваскулярных малодифференцированных клеток, которые, в отличие от контроля, не содержат щелочную фосфатазу (маркер остеогенеза), а также адипоцитов и фибробластов дает основание считать, что в условиях снижения опорной нагрузки меньшая часть малодифференцированных периваскулярных клеток дифференцируется в остео-

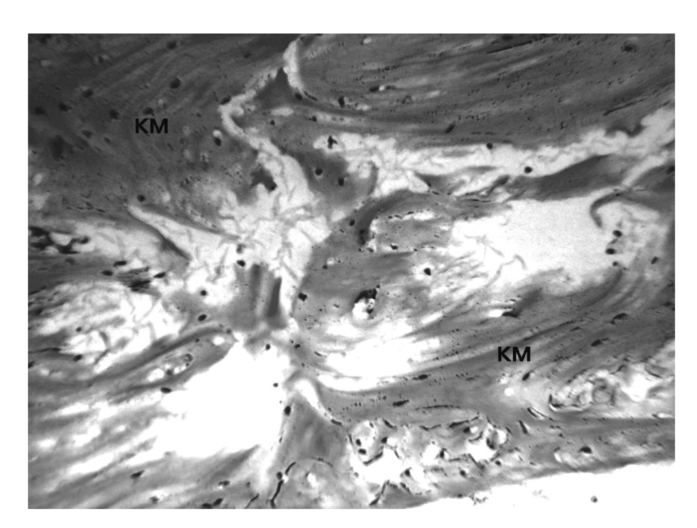


Рис. 2. Остеопоротические полости в костных трабекулах бедренных костей крыс. Гипокинезия, 28 суток. КМ — костный матрикс. Гематоксилин-эозин. x315.

Fig. 2. Osteoporotic cavities in bone trabeculaes of femoral bones of rats. Hypokinesia, 28 days. KM — bone matrix. Hematoxylin-eosin. x315.

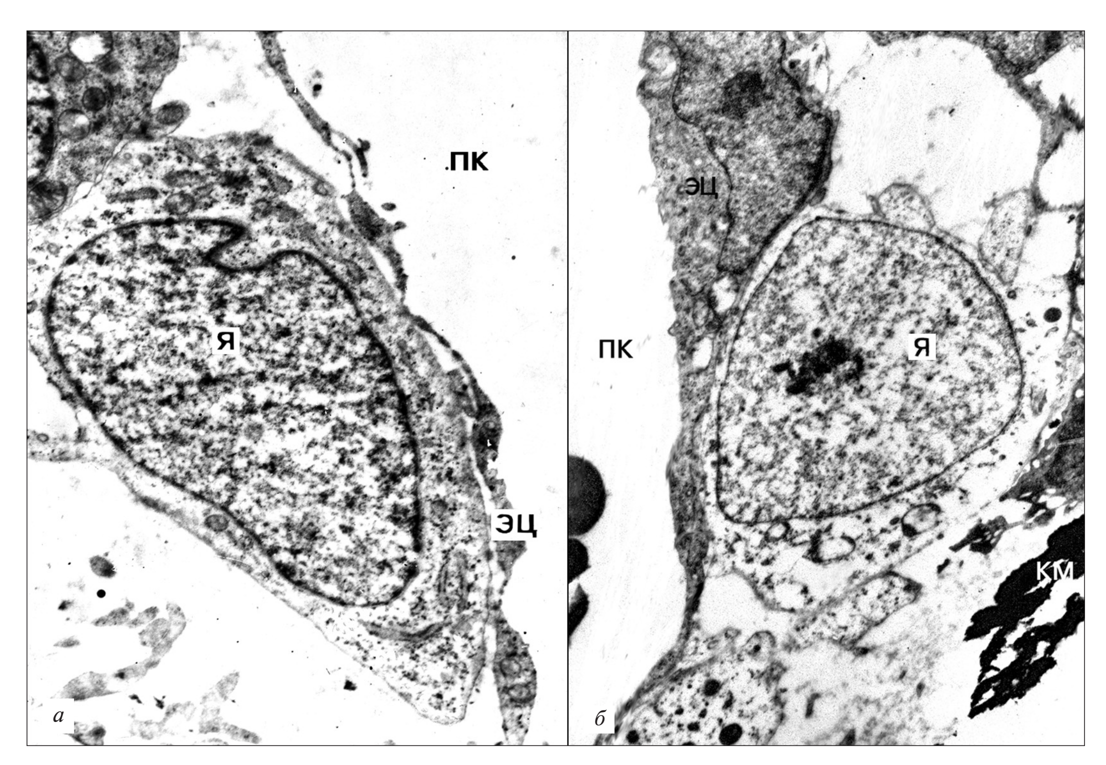


Рис. 3. Малодифференцированные периваскулярные клетки: *а* — контроль; *б* — микрогравитация, 14 сут, SLS−2 (видны признаки деструкции цитоплазмы). КМ — костный матрикс, Я — ядро, ПК — просвет кровеносного сосуда, ЭЦ — эндотелиоцит. x14 500.

Fig. 3. Little-differentiated perivascular cells: *а* — control; *б* — microgravity, 14 days, SLS−2. Signs of destruction of cytoplasm are marked. КМ — bone marrow, Я — nucleus, ПК — vascular lumen, ЭЦ — endoteliocyte. x14 500.

генные. Некоторые малодифференцированные периваскулярные клетки выявляют признаки деструкции (Rodionova, Oganov, 2003; Родионова и др., 2003) (рис. 3). Радиографические исследования с ^{3}H-тимидином показали тенденцию к снижению интенсивности пролиферации остеогенных клеток-предшественников, замедление процессов их дифференцировки в остеобласты и трансформации в остеоциты при длительной гипокинезии (Родiонова, 2006).

В исследованиях с применением электронной микроскопии, цитохимии и радиоавтографии установлено (Родионова 1988, 1989), что в растущей и зрелой кости популяция остеобластов неоднородна. В зависимости от интенсивности остеопластического процесса в том или ином участке кости остеобласты различаются морфологией, уровнем специфических биосинтезов, топографическими взаимоотношениями с зоной минерализации. В популяции остеобластов выделены четыре морфофункциональные состояния (или типа). В зонах интенсивного остеогенеза регистрируются: молодые остеобласты (I тип), зрелые функционально активные остеобласты (II тип), остеобласты с гипертрофированной ГЭС — гранулярной эндоплазматической сетью (клетки-«депо» секрета — III тип). В зонах угасания остеопластического процесса и в зрелой кости остеобласты переходят в малоактивное по отношению к специфическим биосинтезам состояние (IV тип) и формируют клетки (мы рассматриваем их как поверхностные остеоциты), которые выстилают костные поверхности (Родiонова, 2006). Последние, по нашим данным, в зависимости от регулирующих биомеханических стимулов, системных и локальных факторов могут функционировать как остеобласты или как остеоциты.

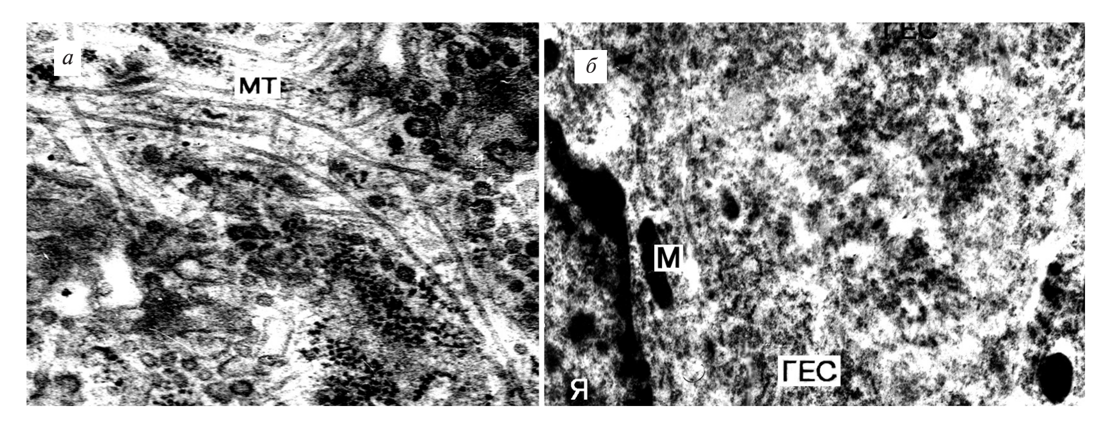


Рис. 4. Фрагменты остеобластов в зоне остеогенеза (SLS–2): *а* — виварийный контроль (видны микротрубочки в цитоплазме), x12000; *б* — полетный эксперимент (каналы ГЭС сильно сужены, микротрубочки не обнаруживаются), x9000. Я — ядро, МТ — микротрубочки, М — митохондрия, ГЕС — гранулярная эндоплазматическая сеть.

Fig. 4. Fragments of osteoblasts in osteogenesis zones (SLS–2): *a* — vivarium control. Microtubules in cytoplasm are marked, x12000; *б* — flight experiment. Channels of GER strongly constriction, microtubules aren't marked, x9000. Я — nucleus, МТ — microtubules, М — mitochondria, ГЕС — rough endoplasmic reticulum.

Морфофункциональная неоднородность остеоцитов обусловлена происхождением их из остеобластов разных функциональных состояний, неодинаковой степенью зрелости клеток, характером и уровнем специфической метаболической активности, а именно: возможностью перехода клеток от остеолитической активности к процессам ограниченного синтеза коллагеновых белков, протеогликанов, участия в метаболизме кальция для обеспечения минерального гомеостаза, т. е. остеоцитарным ремоделированием. На основе полученных данных нами предложена схема взаимодействия клеток в растущей и зрелой кости (Родионова, 1989; Родіонова, 2006).

С учетом изложенных выше позиций электронно-микроскопически исследованы биообразцы из метафизов бедренной кости крыс, которые находились на борту биоспутника «Bion-9», космической лаборатории «SLS–2», гребня подвздошной кости Macaca mulatta (биоспутник «Bion-11»), а также биообразцы бедренной кости крыс, которые пребывали 28 сут в условиях моделированной микрогравитации. Установлено, что условия микрогравитации влияют на популяцию остеобластов и остеоцитов. В ядрах этих клеток усиливается гетерохроматизация, в клетках снижается удельный объем ГЭС. Специфическим при микрогравитации является состояние ГЭС: узкие короткие каналы без расширений распределяются по всей цитоплазме и не имеют типичной для остеобластов и остеоцитов в контроле пространственной организации. Можно полагать, что нарушение типичной архитектоники органелл является следствием дезорганизации (деструкции или «разборки») аппарата микротрубочек, а также деструктивных процессов в мембранах (рис. 4).

Популяция остеобластов, по сравнению с контролем, становится более однородной, уменьшается количество функционально активных остеобластов и увеличивается количество неактивных остеобластов IV типа, которые трансформируются в клетки, выстилающие костные поверхности. В условиях дефицита механической нагрузки (микрогравитации, гипокинезии) в таких выстилающих клетках (поверхностные остеоциты) усиливаются остеолитические процессы, направленные на деструкцию минерализованой костной ткани. В условиях гипокинезии эти явления выражены в меньшей степени (Rodionova et al., 2000; Rodionova, Oganov, 2002; Родіонова, 2006; Rodionova, Oganov, Polkovenko, 2002).

Радиоавтографические с ^{3}H-глицином исследования популяции остеобластов в метафизах бедренной кости крыс после 28 дней гипокинезии подтверждают снижение интенсивности остеопластических процессов (Родіонова та ін., 2004).

При действии микрогравитации и гипокинезии в популяции остеоцитов большинство клеток сохраняют типичную структуру. В отдельных зрелых остеоцитах отмечается возрастание удельного объема комплекса Гольджи (КГ) и лизосомных структур. Это отражает, в первую очередь, усиление процессов остеолитической активности остеоцитов и резорбции минерализованого матрикса в костных лакунах (рис. 5, *а*). В результате апоптоза части таких остеоцитов в костной ткани увеличивается количество пустых лакун (рис. 5, *б*; 6), что подтверждается гистологическими исследованиями. По данным электронной микроскопии и радиоавтографии с ^{3}H-глицином, в некоторых остеоцитах активизируется биосинтез коллагеновых белков, в результате чего расширенные путем остеолизиса остеоцитарные лакуны заполняются коллагеновыми фибриллами, которые не подвергаются минерализации, и в костных структурах появляются зоны фиброза. Это явление следует рассматривать как компенсаторно-востановительную реакцию в костных структурах в ответ на снижение гравитационной нагрузки (Rodionova, Oganov, Zolotova, 2002).

Исследована динамика образования, ультраструктура остеокластов и пути резорбции костной ткани в зонах адаптивного ремоделирования бедренной кости крыс после пребывания в условиях микрогравитации («SLS–2»), а также после 28 сут гипокинезии. С использованием ^{3}H-тимидина установлено, что при гипокинезии происходит более быстрое, чем в контроле, формирование остеокластов путем слияния и присоединения делящихся мононуклеарных клеток-предшественников (Полковенко, 2005).

Электронная микроскопия показала, что в норме, в зависимости от интенсивности процессов резорбции остеокласты различаются формой, размерами, количеством ядер, степенью развития внутриклеточных органелл, «щеточной каймы» и др., а также уровнем биосинтетической активности, которую определяли по интенсивности включения в них ^{3}H-уридина и ^{3}H-метионина. По этим показателям среди остеокластов выделены молодые остеокласты, зрелые функционально-активные и неактивные, а также остеокласты, которые подвергаются пикнозу. Эти морфофункциональные состояния рассматриваются как последовательные этапы жизненного цикла остеокластов (Родионова, 1989).

В условиях гипокинезии и микрогравитации популяция остеокластов также включает в себя молодые остеокласты, функциональноактивные и неактивные остеокласты, разрушающиеся остеокласты. Однако при микрогравитации в их популяции зарегистрированы нехарактерные для контроля функционально-активные остеокласты («гигантские» остеокласты) (рис. 7). В целом остеокласты сохраняют типичную для них ультраструктуру. Однако (это особенно выражено при микрогравитации) имеют место некоторые особенности, связанные с адаптацией к микрогравитации и деструкцией цитоскелета: это более развитый фибрилярный слой с многочисленными короткими выростами «щеточной каймы», небольшого размера фаголизосомы, располагающиеся по всей цитоплазме. Такие особенности ультраструктуры свидетельствуют о резорбции костного матрикса «малыми порциями», но, возможно, в больших масштабах. Динамика включения ^{45}Ca в остеокласты свидетельствует о прямом участии клеток в переносе кальция из минерализованного матрикса, который резорбируется, в межклеточное пространство (Rodionova, Oganov, Polkovenko, 2002). В некоторых зонах резорбции обнаружены нейтрофилы. Разрушаясь, они выделяют гидролитические ферменты и тем самым включаются в процесс деструкции минерализованного костного матрикса. На костных поверхностях зарегистрированы отдель-

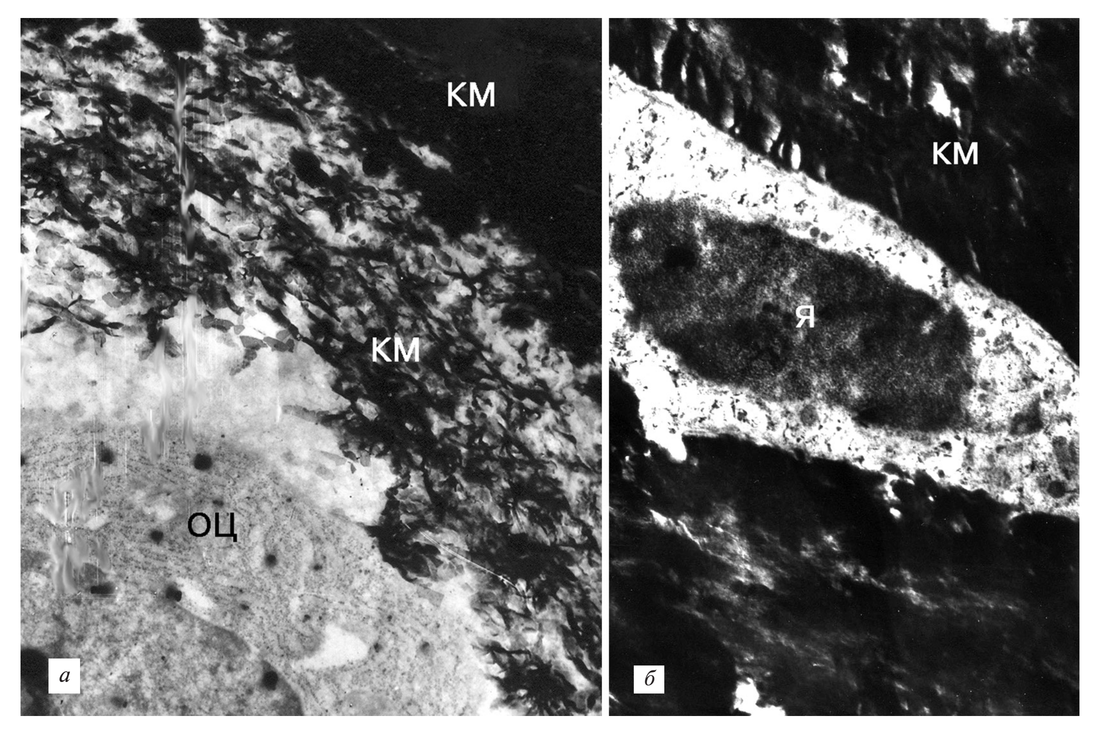


Рис. 5. Остеоциты в зонах ремоделирования костной ткани (Бион-11): *а* — деструкция минерализованого матрикса периостеоцитарной лакуны (остеолизис). x10000; *б* — деструкция (апоптоз) остеоцита, пикноз ядра, x7000. КМ — костный матрикс, ОЦ — остеоцит, Я — ядро.

Fig. 5. Osteocytes in remodeling zones of bone tissue (Bion-11): *а* — destruction of mineralized matrix periosteocitic lacunaes (osteolisis). x10000; *б* — destruction (apoptosis) of osteocyte, picnosis of nucleus, x7000, КМ — bone matrix, ОЦ — osteocyte, Я — nucleus.

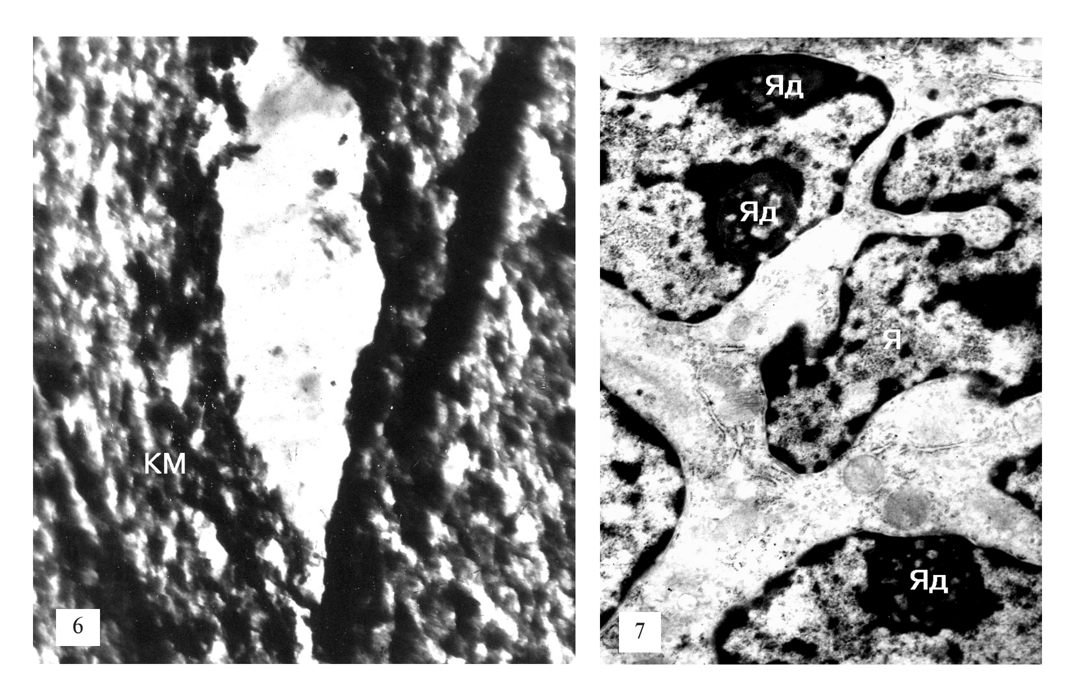


Рис. 6. Образование полости в костной ткани. Гипокинезия. КМ — костный матрикс. x6300.
Fig 6. Forming of cavity in bone matrix. Hypokinesia. КМ — bone matrix. x6300.

Рис. 7 Фрагменты ядер гигантских остеокластов (SLS–2). Я — ядро, Яд — ядрышки. x15000.
Fig. 7. Fragments of nucleuses in gigant osteoclasts (SLS–2). Я — nucleus, Яд — nucleoles. x15000.

ные зоны деминерализации костного матрикса. В ряде случаев ниши резорбции заполняются фибробластами и пучками коллагеновых фибрилл, которые не минерализуются (Родiонова, 2006).

Таким образом, в зонах адаптивного ремоделирования при механической разгрузке процессы резорбции и деструкции в костной ткани возрастают. Это происходит несколькими путями: за счет повышения функциональной активности остеокластов (при микрогравитации мы зарегистрировали «гигантские» остеокласты); путем активации остеоцитарного остеолизиса; благодаря гидролитической активности нейтрофилов, которые поступают в зоны резорбции, а также путем локальной деминерализации поверхностных участков костных трабекул.

Механизмы адаптивного ремоделирования костных структур в ответ на изменение механической нагрузки и особенности механотрансдукции остаются во многом не ясными и являются предметом исследований и научных дискуссий. Существует несколько концепций.

Наиболее распространенная точка зрения, что ремоделирование — это последовательность следующих процессов: активация — резорбция — формация (Teitelbaum, 2000, Baron, 2002 и др.). Пусковые механизмы ремоделирования в костной ткани представлены в концепции «интерстициальная жидкость — остеоциты — остеобласты» (Klein-Nulend et al., 2003 и др.). Остеоциты рассматриваются как первичные механосенсорные клетки, способные реагировать на изменение давления интерстициальной жидкости в костных каналах. Имеется уже достаточно много экспериментальных работ, свидетельствующих в пользу такой возможности. В настоящее время формируется мнение, что остеоциты воспринимают механические сигналы, моделируют их и направляют процессы ремоделирования в костной ткани с участием остеобластов и остеокластов. Трансдукция механических сигналов в костных клетках опосредуется цитоскелетом и сопровождается продукцией PGE_2 (Noble et al., 2003 и др.).

Концепция «костный матрикс — клетки костной ткани — регуляторно-метаболический профиль организма» предусматривает, что при изменении механических нагрузок происходят сдвиги в органическом матриксе, что приводит к быстрой переориентации протеогликанов. Этот механизм обеспечивает «восприятие» напряжения и его «запоминание», а также модифицирует возникающие изменения путем воздействия на остеоциты. Моделирующее действие происходит с участием всей совокупности регуляторно-метаболических факторов (Аврунин и др., 2001 и др.).

Ведущая роль в процессах механотрансдукции и адаптивного ремоделирования костных структур принадлежит межклеточным взаимодействиям. Наши электронно-микроскопические исследования показали, что стромальные клетки костного мозга, преостеобласты, остеобласты и остеоциты контактируют с помощью отростков и образуют своеобразный синцитий, который обеспечивает согласованные реакции клеток, входящих в состав синцития. Наблюдаются и прямые контакты стромальних клеток с поверхностными остеоцитами (Родiонова, 2006). Всесторонне исследованы морфологические взаимодействия клеток (остеобластов, остеоцитов, остеокластов, макрофагов) в зонах остеогенеза и резорбции (Rodionova et al., 2004).

Анализ полученных нами в космических и наземных екcпериментах результатов с учетом данных литературы (Klein-Nulend et al., 2003 и др.) позволяют полагать, что в основе потери костной массы при снижении (снятии) опорной нагрузки лежит следующая последовательность клеточных взаимодействий в зонах адаптивного ремоделирования костных структур (рис. 8). В локусах разгрузки остеоциты первыми реагируют на изменения «механического поля».

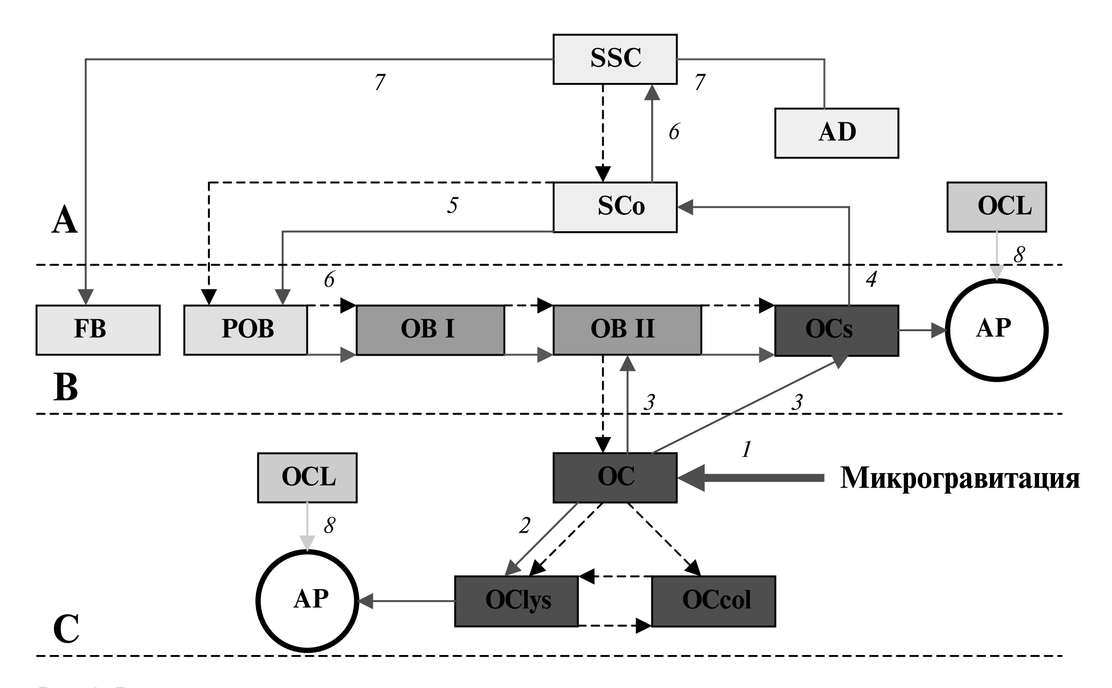


Рис. 8. Взаимоотношения клеток в зрелой кости при снижении механической нагрузки. A — костный мозг, B — костная поверхность, C — глубокий слой кости, SSC — стромальная стволовая клетка, SCo — стромальная клетка (остеогенная), POB — преостеобласт, OB — остеобласт, OCL — остеокласт, OC — остеоцит, OClys — остеоцит, принимающий участие в остеолизисе, OCcol — остеоцит, принимающий участие в синтезе коллагена, OCs — остеоцит на поверхности кости (выстилающая клетка), AP — клетки, поддающиеся апоптозу, FB — фибробласты, AD — адипоциты. Пунктирные стрелки — последовательность процессов в зрелой кости, стрелки с номерами — последовательность процессов в условиях микрогравитации.

Fig. 8. Interrelation of cells in mate bone in condition of low mechanical loading. A — bone marrow; B — bone surface; C — deep slice of bone; SSC — stem stromal cell; SCo — stromal cell (osteogenous); POB — preosteoblasts; OB — osteoblast; OCL — osteoclasts; OC — osteocyte; OClys — osteocyte who take part in osteolysis, OCcol — osteocyte, who take part in process of collagen's biosynthesis; OCs — osteocytes on the bone surface (bone-line cell); AP — apoptotic cells; FB — fibroblasts; AD — adipocytes. Dotted line — following of the processes in mate bone, compact pointers with numbers — following of the processes in conditions of microgravity.

Следующим этапом является остеоцитарное ремоделирование — интенсификация процессов остеолизиса, что приводит к увеличению объема остеоцитарных лакун и удалению «лишней» кости. В то же время через систему каналов и отростков происходит передача моделирующих сигналов от остеоцитов к функционально активным остеобластам и поверхностным остеоцитам, а также клеткам костномозговой стромы. Как реакция на действие механического стимула в системе остеобласты — остеогенные клетки-предшественики происходит замедление пролиферации, дифференцировки и снижение специфического функционирования клеток. Это подтверждается исследованиями динамики дифференцировки остеогенных клеток и интенсивности биосинтеза коллагеновых белков в остеобластах в зонах ремоделирования с применением ^{3}H-тимидина и ^{3}H-глицина.

Если локальная механическая разгрузка не адекватна и превышает физиологические возможности остеоцитов, они подвергаются апоптозу. Апоптоз остеоцитов провоцирует деструктивные изменения и апоптоз в контактирующих с ними остеобластах. Остеоцитарний апоптоз выступает и как «сигнальный механизм» для таргетирования в эти зоны остеокластов (Mosley, 2000; Velborgt et al., 2000), которые резорбируют минерализованный костный матрикс. В условиях микрогравитации отмечено усиление остеокластической активности (Ро-

дионова, Полковенко, 2002). В образовавшиеся лакуны резорбции вслед за остеобластами внедряются макрофаги, которые утилизируют органический матрикс и клеточный детрит в локусах ремоделирования. Продукты резорбции являются хемоаттрактантами для «привлечения» и дифференцировки здесь стромальных клеток в остеогенные, что представляет собой восстановительную фазу. Однако при микрогравитации, согласно нашим исследованиям, в том числе с применением ^{3}H-глицина, физиологически адекватного возобновления остеогенеза не происходит (или масштабы его снижаются). Кроме того, в локусах ремоделирования может развиваться фиброзная ткань и появляются адипоциты.

Так как пустые лакуны, возникшие в результате апоптоза остеоцитов, и ниши остеокластической резорбции в костных структурах не заполняются или заполняются в малом количестве остеогенными клетками, образуются внутрикостные полости и щели. Мы полагаем, что это один из главных путей потери костной массы при снижении опорной нагрузки.

Механизмы системной и локальной регуляции ремоделирования костных структур остаются недостаточно изученными. Большинство авторов считают, что взаимодействие системных и локальных факторов в регуляции метаболизма костной ткани происходит по принципу иерархической упорядоченности. Перераспределение жидкостных сред и электролитов организма в краниальном направлении, которое наблюдается у человека в условиях микрогравитации, коррегирует механизмы волюмо- и ионорегуляции в организме, связанные с эндокринным контролем гомеостаза кальция, и влияет на метаболическую функцию костной ткани. Вероятно, в условиях невесомости и продолжительной гипокинезии имеют место сложные взаимосвязи пула минералотропных гормонов с другими гормональными системами (физиологического и эмоционального стресса, регуляции водно-электролитного обмена и др.) (Григорьев и др., 1994; Hunton et al., 1998).

Перспективные направления наших научных исследований

В условиях реальной (МКС, «Бион-М») и моделированной микрогравитации в сотрудничестве с иностранными коллегами планируется:

1. Продолжить исследование цитологических механизмов гравитационно-зависимых изменений в костном скелете. Актуальным является изучение:

— остеогенных клеток-предшественников (ex-vivo и in vitro);

— изменений сосудисто-клеточного комплекса в зонах ремоделирования костных структур;

— особенностей репродукции, дифференцировки и метаболизма остеогенных клеток с использованием меченых радионуклидов (^{3}H-тимидин, ^{3}H-глицин, ^{45}Ca и др.);

— функциональных особенностей и роли остеоцитов в процессах трансдукции механических сигналов в костной ткани;

— межклеточных и межтканевых взаимодействий в зонах остеогенеза и резорбции;

— особенностей компенсаторно-восстановительных процессов в костях при длительной гипокинезии и микрогравитации.

2. Исследовать изменения биохимических свойств органического матрикса костной ткани и ее минерального компонента.

3. Изучить особенности процессов морфогенеза и адаптивного ремоделирования костной ткани у представителей позвоночных с различным типом опорных нагрузок.

4. Участвовать в оценке эффективности препаратов и методик, используемых для лечения и профилактики остеопении и остеопороза (например, бифосфонатов).

В настоящее время в рамках «Долгосрочной программы научных исследований России и Украины и технологических экспериментов на российском сегменте МКС» и «Национальной космической программы Украины» проводится подготовка совместно с ГНЦ РФ ИМБП РАН (В. С. Оганов) космического эксперимента «Дифференцировка, функциональные потенции и адаптации остеогенных клеток в условиях космического полета» («ОБЛАСТ»). Цель космического эксперимента «ОБЛАСТ» — получение новых научных данных об особенностях дифференцировки, функциональных потенций и адаптаций стромальных клеток костного мозга, содержащих остеогенные клетки-предшественники, при действии факторов космического полета. Эксперимент «ОБЛАСТ» планируется поставить в составе группы космических экспериментов (всего 6) на украинской научной аппаратуре «Биолаборатория-М» (руководитель проекта Е. Л. Кордюм).

В основные задачи эксперимента входит:

— изучить в условиях in vitro цитологические, ультраструктурные, цитохимические и популяционнные характеристики клеток стромы костного мозга, содержащие остеогенные клетки-предшественники;

— исследовать остеогенетические потенции клеток костномозговой стромы, особенности пролиферации, дифференцировки, специфического функционирования остеогенных клеток, некоторые механизмы их гравичувствительности;

— провести сравнительный анализ данных, полученных на клеточных культурах остеогенных клеток, с результатами исследований на тканевом и организменном уровнях для выяснения взаимодействия локальных и системных факторов.

Результаты наших исследований имеют фундаментальное значение для понимания механизмов гравичувствительности, адаптации и дезадаптации костного скелета к изменениям гравитационной нагрузки. Они могут быть применены для более целенаправленной разработки методов диагностики и лечения заболеваний опорно-двигательного аппарата, а также их профилактики в условиях гипокинезии и длительных космических полетов.

Участие в международных конгрессах и конференциях: COSPAR—32 (Польша, Варшава, 2000); Второй всемирный конгресс по астронавтике; COSPAR—34 (США, Хьюстон, 2002); Пятьдесят четверттый международный конгресс по астронавтике (Германия, Бремен, 2003); Конференция «Организмы и окружающая среда» (Россия, Москва, 2003); 21—25th Annual Gravitation Physiology Meeting, (Россия, Москва, 2004 и др.); COSPAR—35 (Франция, Париж, 2004); тематические конференции в ГНЦ РФ ИМБП РАН (Россия, Москва 1991—2008); COSPAR—36 (Китай, Пекин, 2006); COSPAR—37 (Канада, Монреаль, 2008); Life in Space for life on Ears (Франция, Анже, 2008); Украинские конференции по космическим исследованиям (Евпатория, Кацивели, 2000—2007) и др. По результатам исследований было подготовлено более 100 научных публикаций в отечественных и зарубежных журналах, монография (Родіонова, 2006).

Автор статьи благодарит сотрудников Института зоологии НАН Украины и зарубежных коллег, которые участвовали в совместных исследованиях по космобиологии.

Аврунин А. С., Корнилов Н. В., Иоффе И. Д. Адаптационные механизмы костной ткани и регуляторно-метаболический профиль организма // Морфология. — СПб. : Эскулап, 2001. — № 6. — С. 7—12.

Березовская О. П., Родионова Н. В. Влияние микрогравитации на остеогенные клетки in vitro. Ультраструктурные иследования // Цитология и генетика. — 1998. — **32**, № 4. — С. 3—8.

Григорьев А. И., Воложин А. И., Ступаков Г. П. Минеральный обмен у человека в условиях измененной гравитации. — М. : Наука, 1994. — Т. 74. — 216 с.

Капланский А. С., Дурнова Г. Н. Развитие остеопороза у крыс в невесомости // Биоспутники «Космос» : Тез. докл. Междунар. симпоз. (Ленинград, 12—15 авг. 1991 г.). — М. : ИМБП, 1991. — С. 48—49.

Коржуев П. А. Эволюция скелета позвоночных животных и сила гравитации // Проблемы космической биологии. — М. : Наука, 1976. — Т. 33. — С. 31—46.

Оганов В. С. Костная система, невесомость и остеопороз. — М. : Слово, 2003. — 260 с.

Оганов В. С., Шнайдер В. С. Костная система // Космическая биология и медицина: Человек в космическом полете. — М. : Наука, 1997. — Кн. 1, Т. 3. — С. 421—460.
Поворознюк В. В., Подрушняк Е. П., Орлова Е. В. Остеопороз на Украине. — Киев : АМН Украины, Ин-т геронтологии, 1995. — 49 с.
Полковенко О. В. Динамика утворення остеокластів при модельованій гіпокінезії за даними радіоавтографії з 3Н-тимідином // Укр. морфол. альманах. — 2005. — № 3. — С. 92—93.
Родионова Н. В. Остебласты различных функциональных состояний // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. — 1988. — **87**, № 12. — С. 54—61.
Родионова Н. В. Функциональная морфология клеток в остеогенезе. — К. : Наук. думка, 1989. — 186 с.
Родіонова Н. В. Цитологічні механізми перебудов у кістках при гіпокінезії та мікрогравітації. — К. : Наук. думка, 2006. — 240 с.
Родионова Н. В., Оганов В. С., Бакулин А. В. Морфофункциональные изменения в клетках костной ткани при невесомости // Биоспутники «Космос» : Тез. докл. Междунар. симпоз. (Ленинград, 12—15 авг. 1991 г.). — М. : ИМБП МЗ СССР 1991. — С. 105—106.
Родионова Н. В., Вельдхьюзен П. Развитие эмбриональной кости в условиях космического полета. Космическая биология и медицина // Десятая междунар. конф. — М., 1994. — 102 с.
Родионова Н. В., Клыков В. И., Мажуга П. М. и др. Структурные изменения в трубчатых костях животных, обитающих в зоне отчуждения ЧАЭС // Материалы конф. (Зеленый мыс). — 1996. — Т. 2. — С. 356—365.
Родионова Н. В., Оганов В. С., Исламова М. А., Кабицкая О. Е. Изменение в периваскулярных клетках в зонах адаптивного ремоделирования костной ткани в условиях гипокинезии // Организм и окружающая среда: адаптация к экстремальным условиям (Россия). — М., 2003. — С. 297—299.
Родіонова Н. В., Золотова-Гайдамака Н. В., Ніцевич Т.П. Гістоавторадіографічні дослідження біосинтезу колагену остеогенними клітинами при модельованій гіпокінезії // Проблеми остеології. — 2004. — **7**, № 3—4. — С. 26—30.
Родионова Н. В., Богданович Л. В. Колониеобразование стромальних клеток костного мозга крыс in vitro после экспериментальной гипокинезии // Укр. морфол. альманах. — 2005. — № 1. — С. 53—55.
Родионова Н. В., Полковенко О. В. Особенности резорбции костной ткани в условиях снижения опорной нагрузки // Укр. морфол. альманах. — 2002. — 5, № 2. — С. 179—180.
Смит А. Основы космической биологии // Основы космической биологии и медицины. — М. : Наука ; Вашингтон : НАСА, 1975. — Кн. 1, т. 2. — С. 114—117.
Ступаков Г. П., Воложин А. И. Костная система и невесомость. — М. : Медицина, 1989. — Т. 3. — 315 с.
Шмальгаузен И. И. Происхождение наземных позвоночных. — М. : Наука, 1964. — 270 с.
Baron R. Anatomy and ultrastructure of bone. Histogenesis, Growth and Remodeling, 2002. Ch. 1 (Internet)
Burr D. B., Martin R. B. Mechanisms of bone adaptation to the mechanical environment // Triangle. — 1992. — **31**, N 2/3. — P. 59—76.
Carter D. R., Wong M., Orr T. E. Musculoskeletal ontogeny, phylogeny and function adaptation: Proc of the NASA Symp/ on the influence of gravity and activity on muscle and bone // J. of Biomechanics. — 1991. — **24** (Suppl. 1). — P. 3—16.
Doty S. B. Space flight and bone formation // Materwiss Werksttech. — 2004. — **35**, N 12. — P. 951—961.
Hunton C. S. L., Grigoriev A. C., Natochin Yu. V. Fluid and elecrtrolite regulation in space flight. Ibl.94. Science and Technol. Ser. Publ. for the AAS by Univelt Inc. — 1998. — 219 p.
Kaplansky A. S., Durnova G. N., Ilyina-Kakueva E. I. Histomorphometric analysis of bones of Cosmos-1887 rats // Physiologist. — 1990. — **33**. — P. 20—22.
Klein-Nulend J., Bacabac R. G., Veldhuyzen J. P., Van Loon J. J. Microgravity and bone cell mechanosensitivity // Adv. Space Res. — 2003. — **32**, N 8. — P. 1551—1559.
Loon J. J. Bone and Spacefligh: an overview // Effect of spaceflight and hypergravity on mineral metabolism in organ culture of fetal mouse long bones. Vrije Universitet. — 1995. — P. 1—16.
Melton L. J. Perspectives: how many women have osteoporosis now // J. Bone Min. Res. — 1995. — N 10. — P. 175—177.
Morey-Holton E. R., Arnaud S. B. Skeletal responces to weightlessness: Advances in space biology and medicine // Ed S. L. Bonting. — AI. Press Inc. — 1991. — Vol. I. — P. 37—69.
Morey-Holton E. R., Globus R. K. Hindlimb unloading of growing rats: A model for predicting skeletal changes during space flight // Bone. — 1998. — **22**, N 5. — P. 79—82.
Mosley R. Osteoporosis and bone functional adaptation: Mechanobiological regulation of bone architecture in growing and adult bone, a review // J. Rehabil. Res. and Develop. — 2000. — **37**, N 2. — P. 8—13.
Noble B. S., Peet E., Stevens H. et al. Mechanical loading: biphasic osteocyte survival and targeting of osteoclasts for bone destruction in rat cortical bone // J. Physiology — Cell Physiology. — 2003. — **284**, N 4. — P. 934—43.
Rodionova N. V. Conception on the Cell Mechanisms of Bone Tissue Loss // 10th ESA Life Science Symposium. (22—27 june 2008, Angers, France). — 2008. — p. 58.
Rodionova N. V., Oganov V. S. Structural and functional adaptations of the bone tissue cells under microgravity conditions // Укр. мед. альманах. — 1998. — **3**. — P. 76—78.
Rodionova N. V., Shevel I. M., Oganov V. S. et al. Bone ultrastructural changes in Bion-11 rhesus monkeys // J. Gravit. Physiol. — 2000. — **7**. — P. 157—161.

Rodionova N. V., Oganov V. S. Cytological mechanisms of gravity-dependent changes in a bone tissue // Космічна наука і технологія. — 2002. — **8**, № 5/6. — P. 71—76.
Rodionova N. V., Oganov V. S., Polkovenko O. V. Mechanisms of gravity-dependent changes in the bone tissue. «Life in Space for Life on Earth» // 23rd Annual Internat. Gravitat. Physiology. Sweden. — Stockholm. 2002. — P. 73—74.
Rodionova N. V., Oganov V. S., Zolotova N. V. Ultrastructural changes in osteocytes in microgravity conditions // Adv. Space Res. — 2002. — **30**, N 4. — P. 765—770.
Rodionova N. V., Oganov V. S. Changes of cell-vascular complex in zones of adaptive remodeling of the bone tissue under microgravity conditions // Adv. Space Res. — 2003. — **32**, N 8. — P. 1477—1481.
Rodionova N. V., Polkovenko O. V., Oganov V. S. Intaraction of cells in zones of bone resorption under microgravity and hypokinesia // J. Gravit. Phisiology, USA. — 2004. — **11**, N 2. — P. 147—151.
Teitelbaum S. L. Bone resorption by osteoclasts // Science. — 2000. — **289**, N 5484. — P. 1504—1508.
Vico L. Summary of research issues in biomechanics and mechanical sensing // Bone. — 1998. — **22**, N 5. — P. 135—137.
Vico L., Bourrin S., Genty C. et al. Histomorphometric analyses of cancellous bone from COSMOS 2044 rats // J. Appl. Physiol. — 1993. — **75**, N 5. — P. 2203—2208.
Velborgt O., Gibson G. J., Shaffer M. B. Loss of osteocyte integrity in association with microdamage and bone remodeling after fatigue in vivo // J. Bone and Miner. Res. — 2000. — **15**, N 1. — P. 60—67.